

### 39. Otto Baumgärtel: Chromatische Fixierung.

(Mit 1 Textfigur.)

(Eingegangen am 11. Juni 1918.)

Die gangbaren und bewährten cytologischen Präparationsmethoden bestehen in zwei getrennten Manipulationen, von denen jede auf verschiedene Arten sich vollziehen läßt, je nach der Differenzierung, die man hinsichtlich der morphologischen Details des Zellinhaltes herauszuarbeiten wünscht: Fixierung und Färbung.

So gelungen und dauerhaft die auf diese Weise erhaltenen Resultate auch sein mögen, ist dennoch vom ökonomischen und kritischen Standpunkte aus der Versuch nicht abzuweisen, Fixierung und Färbung in eine einzige Manipulation zusammenzufassen unter der Voraussetzung, daß die so erhaltenen Präparate weder an Qualität noch an Stabilität den nach bewährten Methoden hergestellten nachstehen, sondern sich überdies durch Ersparnis an Zeit, Mühe und Mitteln sowie einfachere Handhabung empfehlen. Einerseits nötigt die Zwangslage des Kriegswirtschaftslebens zur möglichsten Sparsamkeit mit Dingen wie Alkohol oder Farbstoffe, deren Vergeudung auch im wissenschaftlichen Laboratorium vermieden werden sollte. Andererseits ist die Wahrscheinlichkeit der chemischen und morphologischen Integrität eines cytologischen Präparates um so geringer, je größer die Zahl der Reagenzien ist, die das Objekt bis zum definitiven Einschlusse passieren muß. Besonders die labilen Nukleoproteide erleiden leicht verschiedenartige Zersetzungen und Veränderungen, auf welcher Wandelbarkeit die verschiedene Färbbarkeit verschieden konservierter Kerne beruht.<sup>1)</sup> Mit der Vereinigung der Fixierung und Färbung zu einer Manipulation, die ich **chromatische Fixierung** nenne, ist demnach eine größere Garantie für intakte Konservierung des Zellinhaltes gegeben.

Bei algologischen Untersuchungen verwendete ich früher<sup>2)</sup> eine Lösung, die ähnlich wie das gebräuchliche Gemisch „Methylgrün-Essigsäure“ an frischem Materiale die Zellkerne sichtbar machte, ohne aber den Zellinhalt durchzufixieren, weshalb solche Präparate

1) M. HEIDENHAIN, Plasma und Zelle. I. 1. Jena 1907, p. 129.

2) O. BAUMGÄRTEL, Algologische Studien im Gebiete des unteren Kamnitzbaches. Lotos, 1914, p. 164.



nicht einschlußfähig waren, da sie in keinem Medium ihre Färbung behielten, die mehr adsorptiven Charakter besaß. Dieses Schnellfärbemittel war „eine Lösung von Eosin in sehr verdünntem Alkohol, der bis zum Eintritte der Ausflockung Alaunwasser zugesetzt wurde; das lichtrote Filtrat färbt speziell Zygnemaceen-Kerne schnell tiefrot“.

Versuche mit Pikrofuchsin nach HANSEN (Gieson-Lösung)<sup>1)</sup> und Pikroindigokarmin nach CAJAL<sup>1)</sup> bewährten sich an pflanzlichen Zellen wenig.

Erst unter Zuhilfenahme von Hämatein gelang mir im Verlaufe vergangenen Sommers die Herstellung einer Lösung, die ich als **Pikrinsäure-Sublimat-Hämalaun** bezeichne und welche die erwünschten Eigenschaften eines „Chromofixativs“ besitzt. Diese Kombination, sie sei mit Ps.S.H.A. bezeichnet, hat folgende Zusammensetzung:

Destill. Wasser . . . . .	80 ccm
Alaun . . . . .	1 g
Hämatein <sup>2)</sup> . . . . .	0,1 g
96 % Alkohol . . . . .	20 ccm
Pikrinsäure <sup>2)</sup> . . . . .	0,5 g
Sublimat <sup>3)</sup> . . . . .	1 g

Bei der Herstellung von Ps.S.H.A. wird zunächst der Alaun in der vorgeschriebenen Menge kochenden, destillierten Wassers gelöst, dann das Hämatein unter vorsichtigem Erwärmen in dem Alkoholquantum, worauf die zweite Lösung der ersten zugesetzt wird. Nun setzt man unter Umrühren mit einem Glasstabe die Pikrinsäure zu und schließlich nach deren Lösung das Sublimat, worauf man die Lösung abkühlen läßt. Diese ist goldbraun gefärbt, klar und sofort gebrauchsfähig. In roter Glasflasche aufbewahrt, hält sie sich unbegrenzt lange bei gutem Verschlusse.

Zum Gebrauche schüttet man einige Kubikzentimeter in ein Gläschen und bringt das betreffende Objekt in die Lösung, in welcher es je nach seiner Konsistenz verschieden lange verweilt. Nach meiner Erfahrung kann man bei einzelligen, zarten Organismen bereits nach einer halben Stunde Erfolge erzielen, jedoch ist eine Einwirkung von 5 Stunden auch nicht von sichtbarem Nachteile. Zellfäden, Zellflächen und zartere, nicht zu mächtige Gewebekomplexe sind nach 6 Stunden Verweilen in Ps.S.H.A. chromatisch fixiert. Vielschichtige

1) B. SCHMID, Handbuch der naturgeschichtlichen Technik. Berlin und Leipzig, 1914, p. 18.

2) Dr. G. GRÜBLER & Co., Leipzig.

3) Gepulvert oder in dosierten, zur chirurgischen Asepsis verwendeten Würfeln.



Gewebe hingegen brauchen wohl 12 Stunden ehe sie durchdrungen sind. Zentrifugate werden im Spitzglase selbst der Wirkung der Lösung ausgesetzt.

Hat das Objekt genügend lange im Ps.S.H.A. geweilt, so wird durch vorsichtiges Dekantieren die Lösung zu dem in der Stammflasche gebliebenen Reste zurückgeschüttet, um immer wieder verwendet werden zu können, bis die goldbraune Farbe in ein schmutziges Olivgrün umschlägt. Das fixierte Material wird hierauf in reines Wasser gebracht, das solange gewechselt wird, als es sich noch von der dem Objekte entströmenden Pikrinsäure gelb färbt. Ist diese entfernt, so hat sich das Objekt über Braun allmählich violett gefärbt.

Die weitere Behandlung führt das Material durch 96 % Alkohol über Alkohol-Xylol (1 : 1) in reines Xylol. Greifbare Objekte ließ



Fig. 1

ich auf folgende Art diese Skala durchlaufen: Einem Probegläschen wurde der Boden abgeschnitten und mittels feiner Gaze die trichterige Mündung verschlossen, wobei sich Blumendraht verwenden ließ. In dieses Siebröhrchen wurde nun das betreffende Objekt gebracht, worauf jenes auf je 24 Stunden in ein Glas getaucht wurde, das gut verschließbar eine der drei Flüssigkeiten der Skala enthielt, wie es Fig. 1 veranschaulicht. Indem in drei solchen Gläsern die betreffenden Reagenzien verblieben und die Siebröhrchen mit ihrem Material einfach dieselben passierten, wurden bedeutende Ersparnisse an Alkohol und Xylol erzielt. Nach Abdunsten ihres Xylolgehaltes können die Siebröhrchen von neuem die Skala mit neuem Materiale durchwandern. Zentrifugate werden natürlich im Spitzgläschen der Reihe nach mit Alkohol, Alkohol-Xylol, Xylol behandelt.



Zum Schneiden bestimmtes Material ist hiemit in toto gefärbt ins Xylol gelangt und kann nach gewohnter Weise in Paraffin eingebettet, geschnitten und in Kanadabalsam eingeschlossen werden. Bei etwaigen Ueberfärbungen müssen die Schnitte über Alkohol-Xylol und Alkohol zur Differenzierung in eine 3% Alaunlösung in Wasser gelangen.

Objekte, die, aber ohne geschnitten werden zu müssen, eingeschlossen werden können, lassen sich in 3% Alaunlösung bereits vor dem Durchlaufen der Skala nach dem Auswaschen mit Wasser entsprechend differenzieren, falls sie überfärbt sein sollten, oder weiter in Ps.S.H.A. behandeln, wenn sich die chromatische Fixierung nach dem Auswaschen als ungenügend erweist. Entsprechen sie aber den Erwartungen, so werden sie nach Durchlaufen der Skala direkt in einen Tropfen stark verdünnter Lösung von Kanadabalsam in Xylol auf dem Objektträger überführt und mit einem Deckglas bedeckt der allmählichen Abdunstung des überschüssigen Xylols überlassen. Je zarter das Präparat ist, desto verdünnter soll die Lösung des Kanadabalsams sein; immer aber muß sie den Flüssigkeitscharakter des Xylols aufweisen.

Die Wirkung des Ps.S.H.A. habe ich an einer Reihe von Präparaten studiert, die folgenden Objekten entstammten: *Euglena*, *Microspora*, *Oedogonium*, *Hookeria*, *Impatiens*, *Hyacinthus*, *Elodea*. In allen Fällen bewährte sich die Lösung als fixierendes Kernfärbemittel, indem in dem schwachvioletten oder farblosen Cytoplasma der bläulichviolette Kern sich deutlich hervorhob. Im besonderen zeigten die einzelnen Teile der Zelle folgendes Verhalten:

**M e m b r a n:** Zellulosemembranen farblos, pektinöse leicht violett.

**P l a s m a:** Leicht violett bis farblos.

**C h l o r o p l a s t e n:** Hellviolett; Algenchromatophoren oft kräftiger gefärbt, was vielleicht auf dem Vorhandensein von Glykoproteiden beruht.

**P y r e n o i d e:** Zonärer Bau; Zentrum rötlichviolett, eine farblose Mittelzone und eine blauviolette Außenzone. Das Zentrum dürfte einem Glykoproteidherde entsprechen, der lakunösen Bau zeigt und die Kohlehydrate, die sich im Chromatophor gebildet, nach provisorischer Bindung mit einem Eiweißpaarling kondensierter abspaltet, worauf sie nach Passieren der Mittelzone sich in der äußeren als Amylum niederschlagen.<sup>1)</sup>

1) F. OLTMANN'S, Morphologie und Biologie der Algen II. Jena, 1905, p. 111, widmet der Pyreniodfrage ein übersichtliches Kapitel.



**Chromatin:** Dunkelviolett; bei 1265 facher Vergrößerung zeigen die Spindelkerne der Epidermis von *Hyacinthus*, daß die sogenannten „Körnchen“ eigentlich „Bläschen“ sind, Lakunen des Liniengerüsts, welche die chromatische Substanz füllt.

**Kerngerüst und Kernsaft:** Bläulich bis farblos.

**Kernmembran:** Farblos, aber gut zu unterscheiden.

**Nukleolus:** In höheren Pflanzenkernen farblos oder schwach violett gefärbt. Bei *Oedogonium* stark violett, oft mit einem leichten rötlichen Ton. Der Scheibenkern von *Microspora* erscheint überhaupt wie eine Kern mit einem einzigen, zentralen Nukleolus oder wie ein Pyrenoid. Nach OLTMANN<sup>1)</sup> ist es plausibel, daß Nukleolen, die sich mit Kernfarbstoffen färben, eigentlich lokale Anhäufungen von Nukleinsubstanzen vorstellen, wie ja im extremsten Falle bei *Microspora* alles Chromatin im Kernzentrum konzentriert erscheint.

Diese Befunde enthalten mancherlei, dessen Erörterung anderweitig ausführlich erfolgen soll. Hier wurden sie nur insoweit erwähnt, als sie darzutun imstande sind, daß die chromatische Fixierung geeignet ist, cytologische Fragen anzuregen und vielleicht zu vertiefen.

Prag, Botanisches Institut der k. k. deutschen Universität,  
Juni 1918.

---

1) l. c. p. 96.



# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1918

Band/Volume: [36](#)

Autor(en)/Author(s): Baumgärtel Otto

Artikel/Article: [Chromatische Fixierung. 318-322](#)